

PENETAPAN STANDAR NASIONAL TOKSOID SERAP TETANUS

Muljati Prijanto, Farida S., Siti Mariani S. *)

ABSTRACT

To check the potency of DPT vaccine, standard preparations of the components, namely Adsorbed Diphtheria Toxoid, Pertussis Vaccine and Adsorbed Tetanus Toxoid, are needed.

Since WHO International Standard Preparations are distributed only in limited amounts, WHO has suggested that each member country should develop a National Standard, which is matched against International Standard Preparations.

An Indonesian National Standard of DPT vaccine (lot 1) has been prepared and lyophilized at the National Institute of Health in Tokyo.

The potency of the National Standard of Tetanus Toxoid adsorbed was determined by challenge method in guinea pigs. After several experiments, the potency of the National Standard of Tetanus Toxoid adsorbed was decided i.e. 76 IU/ml.

Using the same standard preparations, namely the National Standards, it is hoped that from a lot of DPT vaccine, similar results of potency could be achieved when determined by the Government Vaccine Quality Control Laboratory and the Manufacturer's laboratory.

PENDAHULUAN

Dalam penelitian ini dilakukan penetapan potensi Standar Nasional Toksoid serap Tetanus.

Cara yang digunakan untuk pemeriksaan ialah cara "challenge" dengan menggunakan marmut. Dalam hal ini diukur potensi imunogenik toksoid yang dinyatakan dengan International Unit (IU). Dalam melakukan standarisasi toksoid serap tetanus, WHO telah menetapkan penggunaan hewan percobaan marmut, sedangkan untuk pemeriksaan rutin dan untuk mendapatkan data penunjang pada standarisasi dapat dilakukan dengan cara yang sama menggunakan mencit.

BAHAN DAN CARA KERJA

Standar Internasional toksoid serap tetanus diperoleh dari Statens Serum Institute, Copenhagen, dengan potensi 120 IU/ml. Calon standar toksoid serap tetanus diperoleh dari NIH di Tokyo. Marmut (guinea pig) dibiakkan oleh Bidang Hewan Percobaan pada Puslit Biomedis di Jakarta.

Standar toksoid serap tetanus dikeringkan (di "lyophilize") dengan menggunakan stabilisator serum marmut atau larutan haemacel buatan Hoechst, yang ditambahkan pada toksoid dengan volume yang sama.

Serum marmut yang digunakan harus bebas dari zat anti terhadap tetanus.

Setiap ampul standar mengandung 1 ml campuran tersebut.

Pemeriksaan potensi pada marmut

Enampuluh ekor marmut dengan bobot badan antara 250–350 gram, separuh berjenis kelamin jantan dan separuh betina, dibagi dalam 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari 10 ekor. Tiga kelompok pertama diimunisasi dengan Standar Internasional toksoid serap tetanus dengan dosis berturut-turut 4 IU, 2 IU, dan 1 IU per 2 ml toksoid, secara subkutan. Tiga kelompok berikutnya diimunisasi dengan calon standar dengan pengenceran berturut-turut 31,6; 100; 316 kali per 2 ml, secara subkutan. Empat minggu setelah imunisasi, marmut-marmut tersebut di-"challenge" dengan menyuntikkan toksin tetanus sebanyak 50 LD₅₀ per ml, secara sub-

*) Pusat Penelitian Bio Medis, Badan Lit. Bang Kesehatan, Jakarta.

kutan. Sebagai kontrol toksin digunakan 1 kelompok marmut yang terdiri dari 10 ekor dan masing-masing disuntik dengan toksin tetanus 1 LD₅₀ per ml. Pengamatan terhadap hewan dengan gejala tetanus atau mati dilakukan selama 6 hari. Perhitungan statistik dilakukan dengan cara "parallel line assay" (1) untuk menghitung potensi vaksin dan untuk menerangkan kesejajaran garis reaksi kekebalan pada hewan percobaan. Selain dengan marmut dilakukan pula pemeriksaan potensi menggunakan mencit yang pada dasarnya adalah sama. Jumlah hewan untuk setiap kelompok terdiri dari 20 ekor mencit dengan bobot badan antara 10–12 gram dan berumur kira-kira 3 minggu. Dosis Standar Internasional yang diberikan ialah berturut-turut 2, 1, 0,5 IU per 0,5 ml, sedangkan pengenceran untuk calon standar ialah berturut-turut 31,6; 100; 316 kali per ml.

HASIL

Hasil dua kali pemeriksaan potensi pada marmut dapat dilihat pada tabel 1. Potensi toksoid rata-rata adalah 75,8 IU/ml. Hasil 6 kali pemeriksaan potensi pada mencit ditunjukkan pada tabel 2. Pada pemeriksaan ini digunakan 2 macam standar, dan hasilnya diperuntukkan sebagai data penunjang.

Perbandingan kandungan bahan dalam toksoid serap tetanus Standar Nasional terhadap Standar Internasional dapat dilihat pada tabel 3. Ternyata Standar Nasional mempunyai rasio IU/mg dan IU/Lf yang lebih tinggi daripada Standar Internasional.

PEMBAHASAN DAN KESIMPULAN

Pemeriksaan potensi calon standar toksoid serap tetanus pada mencit menunjukkan hasil yang lebih seragam dibandingkan dengan hasil pada marmut. Hal ini mendukung ketetapan WHO bahwa untuk standarisasi toksoid serap tetanus harus digunakan marmut.

Lepas dari keragamannya, hasil pemeriksaan potensi pada mencit ternyata mendukung hasil pemeriksaan potensi pada marmut, sehingga penentuan potensi calon standar yang hanya dilakukan 2 kali pada marmut sudah cukup memadai untuk penetapan potensi calon standar nasional toksoid serap tetanus.

Di lain pihak, imunogenisitas calon standar ternyata cukup tinggi dibandingkan dengan Standar Internasional toksoid serap tetanus. Dengan demikian, calon standar dapat ditetapkan sebagai Standar Nasional untuk toksoid

Tabel 1. Hasil pemeriksaan potensi toksoid serap tetanus pada marmut.

Percobaan	Jumlah hewan std: calon std	Potensi relatif IU/ml ^a	\bar{b}	s^2
I	20 : 20	70,8 (52,0 – 97,0)	5,0000	1,1720
II	30 : 30	80,4 (60,0 – 108,0)	4,2070	1,0930
Rata-rata		75,8	(61,1 – 93,9) IU/ml	

Terhadap Std Int. Td. Ser. Tg. 120 IU/ml
() batas signifikansi, $p = 0,95$

Tabel 2. Hasil pemeriksaan potensi toksoid serap tetanus pada mencit.

Percobaan	Jumlah hewan std: calon std	Potensi relatif IU/ml	\bar{b}	s^2
I*	60 : 40	37,7 (18,8 – 76,8)	1,9045	1,7247
II*	60 : 60	77,9 (42,5 – 143,1)	2,4328	2,1123
III*	60 : 60	123,1 (64,4 – 235,5)	2,4238	2,1123
IV*	64 : 48	111,9 (72,0 – 177,0)	1,0860	—
V**	60 : 60	37,5 (23,8 – 60,3)	3,6501	4,2942
VI**	60 : 40	70,58 (47,2 – 109,7)	3,6501	4,2942

* Terhadap Std. Int. Tet. Td. Ads. 120 IU/ml.

** Terhadap Std. Tet. Td. Ads. dari Tokyo : 43 IU/ml.

() fiducial limits, P = 0,95.

Tabel 3. Kandungan bahan dalam standar toksoid serap tetanus

Kandungan	Standar Internasional Toks. Tet. Serap *	Standar Nasional Toks. Tet. Serap
Toksoid/Amp.	80 mg 120 IU 34 Lf	35,5 mg 75,77 IU 9 Lf
1 mg Toksoid	1,5 IU 0,425 Lf	2,1344 IU 0,2535 Lf
1 IU Toksoid	0,667 mg 0,283 Lf	0,4685 mg 0,1188 Lf
1 Lf Toksoid	2,353 mg 3,53 IU	3,9444 mg 8,4189 IU
Al. / Amp.	0,65 mg	0,5 mg
Stabilisator	Serum marmut 50%	Haemacel 50% **

* Standar kedua.

** Hoechst, No. Batch 285023/4.

serap tetanus, dengan potensi 76 IU/ml.

Dalam pelaksanaan pengembangan program imunisasi untuk pencegahan penyakit tetanus di Indonesia, selain pemberian imunisasi vaksin DPT pada bayi, dilakukan pula imunisasi dengan toksoid serap tetanus pada ibu-ibu hamil untuk mencegah timbulnya tetanus neonatorum.

Standar Nasional ini selanjutnya dipakai untuk memeriksa potensi vaksin DPT dan toksoid serap tetanus yang akan digunakan

di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Japan International Agency (JICA) yang telah memberi bantuan dalam hal pembuatan calon standar serta alat-alat dan bahan-bahan yang sukar didapat di Indonesia. Juga kepada Dr S. Kaneyama, expert di bidang toksoid difteri dan tetanus yang telah membantu standardisasi ini.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Finney DJ. Statistical method in biological assay. Charles Griffin & Co, Ltd, London, 1952; 524 – 531.
2. Mandic HG. Establishment of the National Reference—preparation for tetanus toxoid (DPT plain, DPT adsorbed) and its application in testing of preparations containing tetanus toxoid I, II, III, Institute of Immunology, Zagreb, 1965.
3. Murata R, S. Someya, J. Kaneko. Standardization of tetanus toxoid combined with pertussis vaccine. Jap Med Sci Biol 1970; 23 : 211 – 216.
4. WHO Expert committee on biological standardization. Requirement for diphtheria toxoid and tetanus toxoid. Wld Hlth Org Techn. Rep. Ser. 1970; 293 : 25 – 51.